Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and
Scientific Research
University of Mosul
College of Pharmacy

Synthesis, characterization and biological study of some new ester derivatives of coumarin

A Thesis
Submitted to the Committee of Postgraduate Studies
College of Pharmacy/ University of Mosul
As a Partial Fulfillment of the Requirements for the Master Degree in Pharmacy

By
Noora Thamer Abdulaziz

(*B.SC. Pharmacy 2011)*

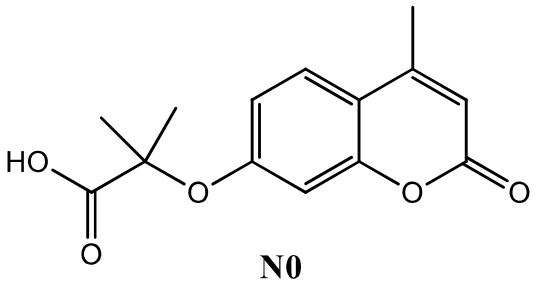
Supervised by
Prof. Dr. Yasser Fakri Mustafa

2021 A.D. 1442 A.H.

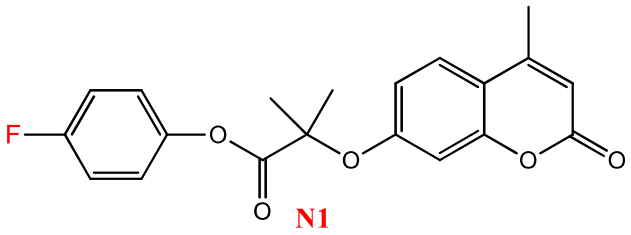
Abstract

In this work, a series of twelve new 7-functionalized coumarins with suspected bioactivities as antitumor and antibacterial applicants was synthesized via three sequential steps. In the first one, 7-hydroxy-4-methylcoumarin, herein symbolized as **HY**, was prepared according to the literature by condensing resorcinol with ethyl acetoacetate through a Pechmann reaction phenotype. In the second stage, **HY** was chemically modified via the Bargellini-type reaction into a novel compound symbolized as a congener **N0**. Finally, the latter compound was coupled under the influence of thionyl chloride with various halophenols affording the target congeners that symbolized herein as **N1-N12**.

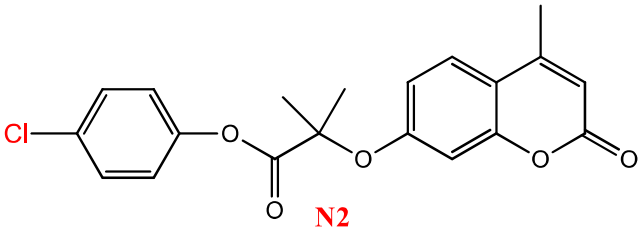
The chemical structures of the synthesized congeners **N0-N12**, as displayed below, were manifested spectroscopically by different analytical instruments, including FTIR, ^{1}H-NMR, and ^{13}C-NMR.



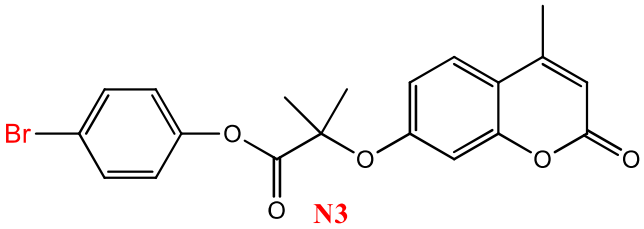
N0



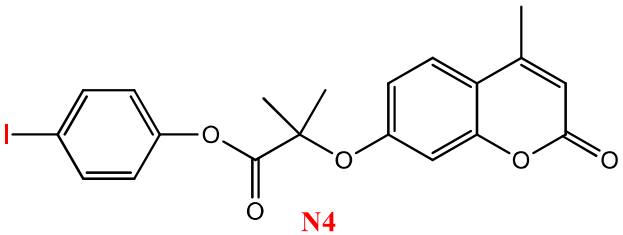
N1



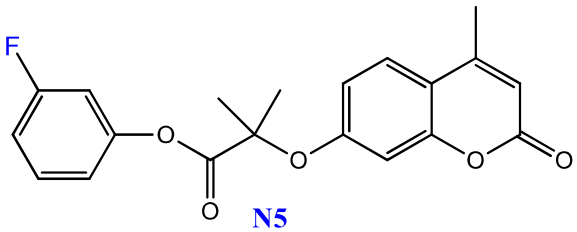
N2



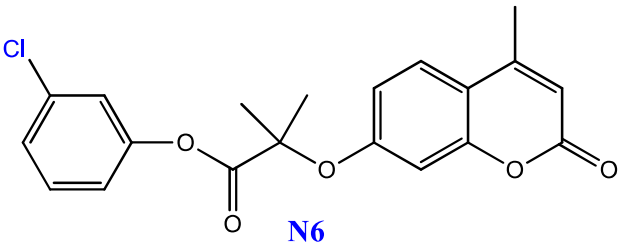
N3



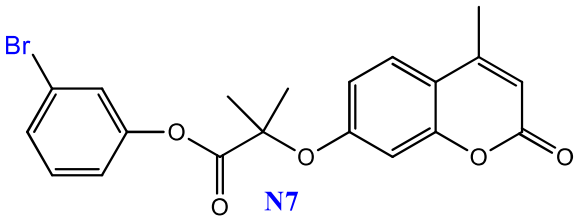
N4



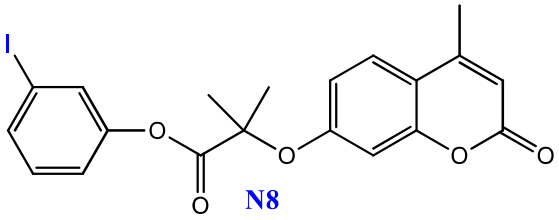
N5



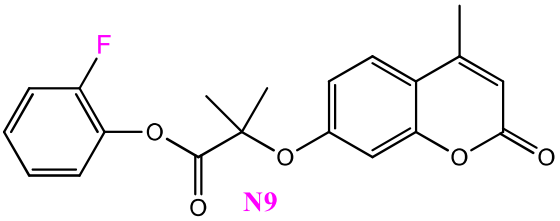
N6



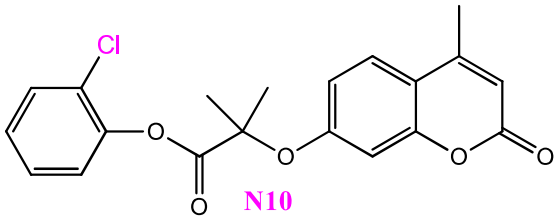
N7



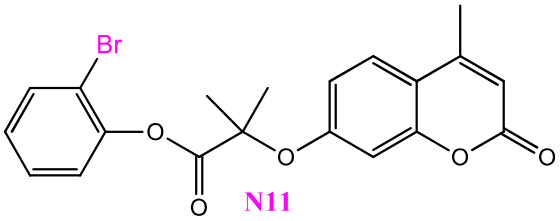
N8



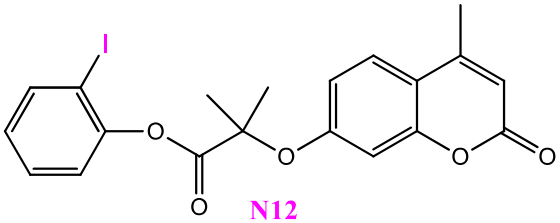
N9



N10



N11



N12

The synthesized congeners were evaluated biologically to determine and compare their potentials as antitumor and antibacterial agents with the precursor moiety. The first potential was assessed via a well-authenticated assay named MTT-cell viability assay. Through which, six cancerous-cell lines were employed, including MCF-7 (86012803, Caucasian breast adenocarcinoma), HeLa (93021013, epithelioid cervix carcinoma), SKG (C27676, human papillomavirus-related cervical squamous cell carcinoma), AMN3 (CVCL-M395, murine mammary adenocarcinoma), SK-OV-3 (91091004, Caucasian ovary adenocarcinoma), and KYSE-30 (94072011, human Asian esophageal squamous cell carcinoma).

The second potential was investigated through a documented protocol of the broth-dilution method. Six Gram-negative-standard bacteria are including *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Shigella dysenteriae* (ATCC 13313), *Haemophilus influenza* (ATCC 49247), *Klebsiella pneumonia* (ATCC 700603), *Escherichia coli* (ATCC 25922), and *Salmonella typhi* (ATCC 6539).

The outcomes gathered from investigating the antitumor activity of the synthesized congeners revealed four informative concerns. Firstly, the fluorinated-congeners (**N1**, **N5**, **N9**) have a more potent and broader antitumor activity than **HY**, **N0**, and other congeners. Secondly, the congener **N5** was more effective than the standard drug named 5-fluorouracil versus two cancerous-cell lines, MCF-7 and HeLa. Thirdly, the congener **N9** exhibited the best potential in comparison with 5-fluorouracil versus two cancerous-cell lines, namely AMN3 and SK-OV-3. Finally, the Bargellini-based compound **N0** demonstrated the least antitumor activity versus the investigated cancerous-cell lines.

The results acquired from the assessment of the antibacterial potential showed four reasonable yields. Firstly, the synthesized congeners exhibited less antibacterial effect than the standard drug ciprofloxacin against the investigated pathogens. Secondly, the synthesized congeners showed a similar fashion in their antibacterial potential concerning the tested microorganisms. Thirdly, the chlorinated-congeners (**N2**, **N6**, **N10**) have greater antibacterial activity than **H**Y, **N0**, and other congeners; among these chlorinated derivatives, congener **N2** was the best. Finally, the compounds **N0** and **HY** have exhibited minimal activity as antibacterial candidates as compared to the synthesized congeners.

From the aforementioned points, it is concluded that the fluorinated-congeners can serve as potent antitumor agents with a broad-spectrum of activity. Also, the chlorinated-congeners exhibited a promising effect as antibacterial agents against Gram-negative bacteria. Finally, these two congener-phenotypes can be considered as privileged platforms and biomedical pre-validated scaffolds in the exploration of new biologically active compounds.

جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل
كلية الصيدلة

تحضير و تشخيص و دراسة احيائية لمشتقات الكومارين الاسترية

اطروحة مقدمة الى

لجنة الدراسات العليا في كلية الصيدلة – جامعة الموصل

كجزء من متطلبات الحصول على شهادة الماجستير في الصيدلة

من قبل

نورا ثامر عبدالعزيز

(*بكالوريوس صيدلة ٢٠١١*)

باشراف

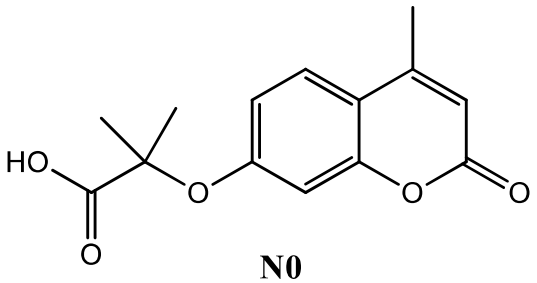
أ.د. ياسر فخري مصطفى

١٤٤٢ هـ ٢٠٢١ م

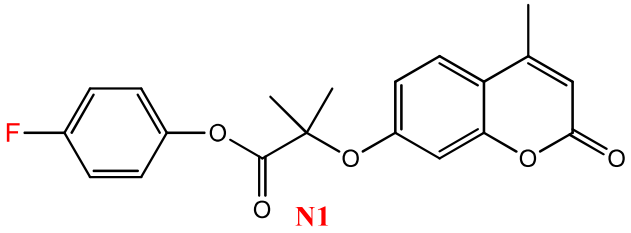
الخلاصة

في هذا العمل، تم تصنيع سلسلة من اثنا عشر مشتقا جديدا من الكومارينات المعوضة في موقع ٧ والمتوقع ان تبدي نشاطا حيويا كمضادات للورم والبكتيريا. تم التصنيع عبر ثلاث خطوات متتابعة: في الخطوة الأولى، تم تحضير ٧-هيدروكسي-٤-ميثيل كومارين، الذي يرمز إليه هنا بـ **HY**، وفقًا للأدبيات عن طريق تكاثف الريسورسينول مع أسيتو أسيتات الإيثيل من خلال التفاعل المسمى تفاعل بيجمان. في المرحلة الثانية ، تم تعديل **HY** كيميائيًا عبر تفاعل بارجنيلي إلى مركب جديد يرمز إليه المتجانس **N0**. أخيرًا ، تم إقران المركب أنف الذكر تحت تأثير كلوريد الثيونيل مع مركبات مختلفة من الهالوفينول لتشكيل المتجانسات المستهدفة والتي يرمز إليها هنا **N1-N12**.

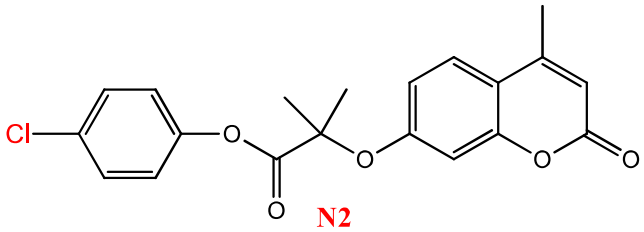
تم التأكد من الهياكل الكيميائية للمتجانسات المحضرة **N0-N12** من خلال تحليل الاطياف تحت الحمراء، الرنين النووي المغناطيسي للبروتون والرنين النووي المغناطيسي للكاربون، وكما هو مرسوم في أدناه.



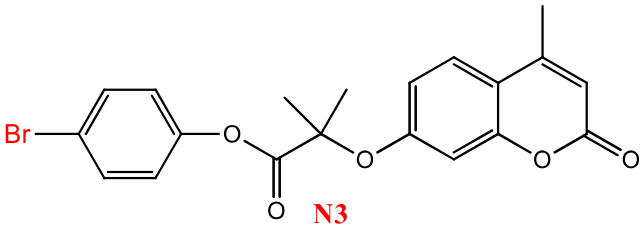
N0



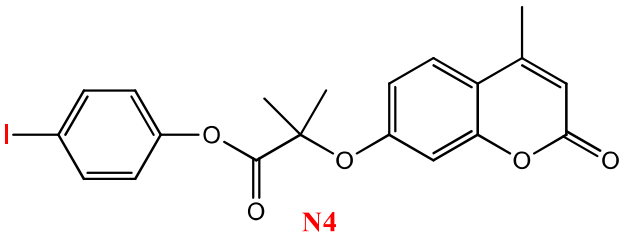
N1



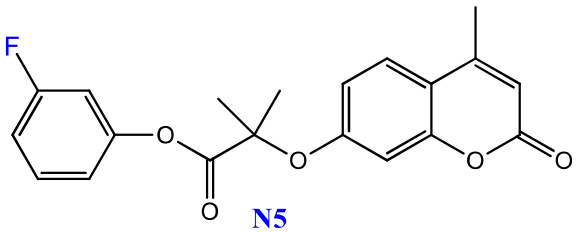
N2



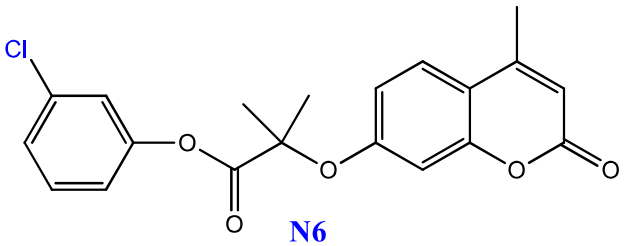
N3



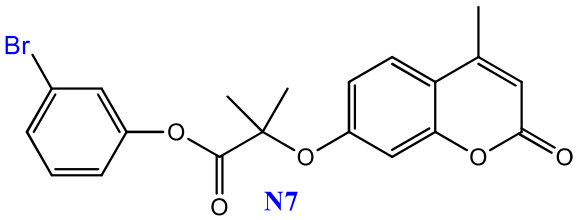
N4



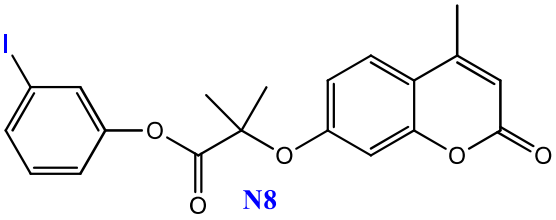
N5



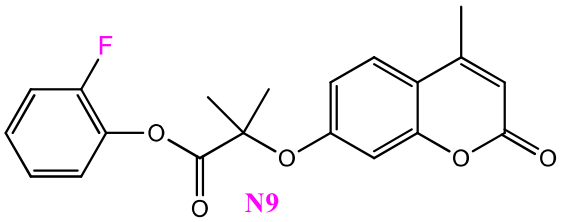
N6



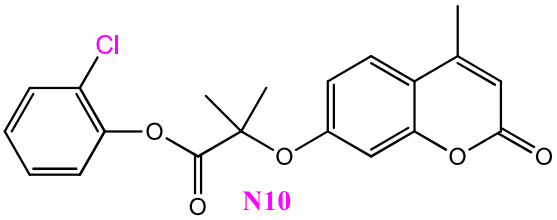
N7



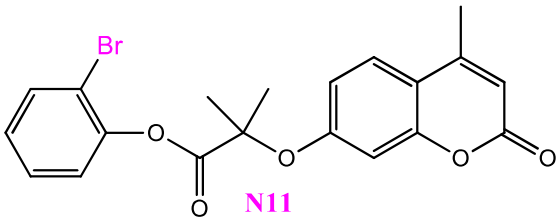
N8



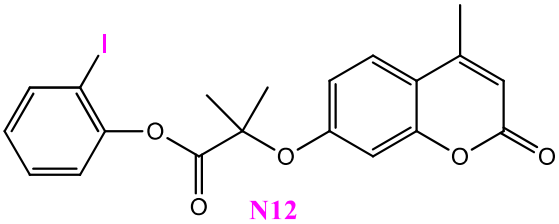
N9



N10



N11



N12

تم تقييم المتجانسات المُصنّعة بيولوجيًا لتحديد ومقارنة فعالياتها كعوامل مضادة للورم والبكتيريا مع المركب الاصلي. تم تقييم الفعالية المضادة للسرطان من خلال اختبار موثق يسمى مقايسة صلاحية خلية ضد ستة خطوط من الخلايا السرطانية وهي: سرطان الثدي القوقازي الغدي، سرطان عنق الرحم الظهاري، سرطان الخلايا الحرشفية العنقي المرتبط بفيروس الورم الحليمي البشري، سرطان الغدة الثديية في الفئران، سرطان الغدي في المبيض القوقازي، و سرطان الخلايا الحرشفية في المريء الآسيوي البشري.

تم فحص امكانية المتجانسات المصنعة كمضادات للبكتريا من خلال بروتوكول تخفيف المرق ضد ستة أنواع من البكتيريا السالبة الكرام هي: الزائفة الزنجارية، الشِّيغِيلَّةُ الزُّحارِيَّةُ، الإنفلونزا المستدمية، الكليبسيلة الرئوية، والإشريكية القولونية (ATCC 25922) والسالمونيلا التايفوئية.

كشفت النتائج التي تم جمعها من تقييم النشاط المضاد للورم للمتجانسات المصنعة أربعة مخرجات مفيدة. أولاً، ان المتجانسات الحاملة للفلور (**N1** ، **N5** ، **N9**) لها نشاط مضاد للورم أقوى وأوسع من **HY** و **N0** والمتجانسات الأخرى. ثانيًا، كان المُتجانِس **N5** أكثر فعالية من العقار القياسي المسمى ٥-فلورويوراسيل مقابل نوعين من الخلايا السرطانية وهما: سرطان الثدي القوقازي الغدي وسرطان عنق الرحم الظهاري. ثالثًا، أظهر المُتجانِس **N9** أفضل فعالية مقارنة بـ ٥-فلورويوراسيل مقابل نوعين من الخلايا السرطانية، وهما : سرطان الغدي في المبيض القوقازي وسرطان الخلايا الحرشفية العنقي المرتبط بفيروس الورم الحليمي البشري. أخيرًا، أظهر المركب **N0** أقل نشاط مضاد للورم ضد انواع الخلايا السرطانية المستخدمة.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من تقييم القدرة المضادة للبكتيريا أربعة عوائد منطقية. أولاً، أظهرت المتجانسات المحضرة تأثيرًا مضادًا للبكتيريا أقل من عقار السيبروفلوكساسين القياسي ضد انواع البكتريا المستخدمة. ثانيًا ، أظهرت المتجانسات المُصنَّعة نمطًا مشابهًا في قدرتها المضادة للبكتيريا. ثالثًا ، ان المتجانسات الحاملة للكلور (**N2**، **N6**، **N10**) قد أظهرت نشاطا مضادا للبكتريا أكثر من **HY** و **N0** والمتجانسات الأخرى ؛ من بين هذه المشتقات الفعالة، كان متجانس **N2**هو الأفضل. أخيرًا ، أظهرت المركبات **N0** و **HY** نشاطًا ضئيلًا مقارنة بالمتجانسات المركبة.

من النقاط المذكورة أعلاه، استنتج أن المتجانسات الحاملة للفلور يمكن أن تعمل كعوامل فعالة مضادة للأورام ذات نطاق واسع من النشاط. كما أظهرت المتجانسات الحاملة للكلور تأثيرًا واعدًا كعوامل مضادة للبكتيريا سالبة الكرام. أخيرًا، يمكن اعتبار هذين الطرازين المتجانسين كمنصات مميزة وسقالات طبية حيوية في استكشاف مركبات جديدة نشطة بيولوجيًا.